

Aus dem Institut für Anatomie
(Geschäftsführender Direktor: Professor Dr.med. H.-J. Merker)
des Fachbereichs Natur- und sozialwissenschaftliche
Grundlagenmedizin und medizinische Ökologie der
Freien Universität Berlin

**MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE ENTWICKLUNG DES MENISCUS
IM KnieGELENK VON MÄUSEN**

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am
Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt

Bernd König

aus
Berlin

1903

Aus dem Institut für Anatomie
(Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. H.-J. Merker)
des Fachbereichs Natur- und sozialwissenschaftliche
Grundlagenmedizin und medizinische Ökologie der
Freien Universität Berlin

MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ENTWICKLUNG
DES MENISCUS IM KNIEGELENK VON MÄUSEN

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am
Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt
Bernd König
aus
Berlin

Referent: Professor Dr. med. H.-J. Merker
Korreferent: Professor Dr. med. dent. H. Lenz

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Zahn-, Mund- und
Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 1.12.1983

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1.0	Einleitung	7
2.0	Material und Methoden	16
3.0	Befunde	19
3.1	Allgemeine Bemerkungen zur Entwicklung der unteren Extremität bei Mäusen	19
3.2	Histologie	20
3.3	Fluoreszenzmikroskopie	22
3.4	Elektronenmikroskopie	23
4.0	Diskussion	31
5.0	Zusammenfassung	36
6.0	Literaturverzeichnis	37

Bildanhang

Lebenslauf



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1.0 Einleitung

Auf dem Gebiet der Bindegewebsforschung sind in den letzten Jahren beträchtliche Fortschritte erzielt worden. Auf der Basis dieser Untersuchungen läßt sich ein recht vollständiges Bild über die Bestandteile der bindegewebigen Interzellulärsubstanz und ihrem strukturellen Verhalten entwickeln (ANDERSON, 1976; ATERMAN, 1981; BALAZS, 1970; DE-LAUNAY and BAZIN, 1964; LAMBERG and STOOLMILLER, 1974; McKUSICK, 1972; MUIR, 1980, 1964; SCHUBERT, 1966; SCHWARZ, 1978; WASSERMANN, 1956).

Drei Stoffgruppen sind wesentlich am Aufbau der bindegewebigen Interzellulärsubstanz beteiligt:

- 1.) das Kollagen,
- 2.) die Proteoglykane,
- 3.) die Glykoproteine.

Das Kollagen liegt im Gewebe überwiegend in Form von elektronenmikroskopisch sichtbaren Strukturen vor. Zusammen mit biochemischen Analysen erlauben diese Bilder die Entwicklung folgender Vorstellung vom Zustandekommen dieser kollagenen Strukturen. Ihr Grundbaustein stellt die kollagene Polypeptidkette dar, die einige Besonderheiten aufweist: Sie enthält Hydroxyprolin, eine in anderen Geweben nicht vorkommende Aminosäure. Die Aminosäurezusammensetzung ist außerdem gekennzeichnet durch das häufige Auftreten von Glycin. Schließlich finden sich noch einige kurze Zuckerketten. Jeweils drei dieser Polypeptidketten



sind in einer α -Helix umeinander gewunden. Nur an den Enden sind die Ketten nicht helikal. Diese terminalen Abschnitte werden nach der Sekretion durch spezifische Enzyme abgespalten. Das so entstandene Molekül stellt den eigentlichen Baustein des Kollagens dar: Das sogenannte TROPOKOLLAGEN (TC) (FIETZEK and KOHN, 1976; GUSTAVSON, 1956; KIVIRIKKO and RISTELI, 1976; KOHN and GLANVILLE, 1980; NEMETSCHKE et al., 1979).

Diese TC-Moleküle aggregieren jeweils um ein Viertel versetzt und bilden dadurch größere Einheiten. Durch diese genaue geometrische Zusammenlagerung ordnen sich reaktive Gruppen, Seitenketten, Molekülfaltungen und Lücken im Gefüge der Aggregate etagenartig an. Dadurch entsteht die charakteristisch periodische Querstreifung des Kollagens mit einer Periodenlänge von 650 - 700 Å (KOHN and GLANVILLE, 1980; LIGHT and BAILEY, 1980; MANABE and KIKKAWA, 1976; MILLER, 1980; SMITH, 1968; SCHMITT et al., 1955). Kollagenaggregate, die weniger als 180 Å dick sind, zeigen diese Querstreifung noch nicht, sie werden als FILAMENTE bezeichnet (SCHWARZ, 1978). Oberhalb dieses Wertes wird die Querstreifung deutlich. Diese langgestreckten, säulenartigen Strukturen stellen die FIBRILLEN dar. Mit fortschreitender Fibrillenbündelung entstehen endlich lichtmikroskopisch erkennbare Fasern (Nomenklatur siehe MERKER, 1973).

Das Kollagen des bindegewebigen Interzellularraumes wird vorwiegend von den ortsständigen Fibrocyten produziert (BORNSTEIN, 1974, 1980; GOULD, 1968; MERKER and STRUWE, 1971; MERKER, 1974; MILLER and MATUKAS, 1974; ROSS, 1968).

jedoch haben offenbar auch Epithelzellen, Endothelien, Schwann'sche Zellen und Muskelzellen die Fähigkeit zur Synthese dieses Proteins (Literatur siehe PENTTINEN et al., 1980).

In Analogie zur Bildung anderer Proteine wird auch das Kollagen an den Ribosomen des rauen endoplasmatischen Retikulums (rER) synthetisiert und in die Hohlräume dieses Organells eingeschleust (GOULD, 1968). Von hier erfolgt ein Transport über Vesikel zum Golgi-Apparat, wo das Molekül endgültig fertiggestellt wird (PALADE, 1975). Daran schließt sich die Bildung der Sekretgranula an, die dann sehr schnell über den üblichen Exocytosevorgang ihren Inhalt nach außen abgeben (OLSEN, 1981; ROSS, 1975).

Die Bildung der Triple-Helix erfolgt noch innerhalb der Zelle. Dabei sind die nicht-helikalen Telo peptide beteiligt, die dann im extrazellulären Raum durch spezifische Enzyme abgespalten werden (LINSEN MAYER, 1981; PROCKOP et al., 1979). Erst dann ist die Aggregation zu Filamenten bzw. Fibrillen möglich. Dieser eigentlichen Fibrillogenese folgt im extrazellulären Raum eine allmähliche Verdickung der Fibrillen durch weitere Aggregation von TC-Molekülen, bis schließlich eine Verteilungskurve der Fibrillendicken entsteht, die für jedes Alter, für jedes Organ und für jede Tierart typisch ist (MERKER, 1973; SCHWARZ et al., 1958; SCHWARZ, 1964; VIIDIK, 1973).

In letzter Zeit haben sich zwei Forschungsrichtungen als besonders fruchtbar für das Verständnis der Kollagenfunktion erwiesen. Einmal konnte festgestellt werden, daß mindestens fünf verschiedene Kollagentypen existieren, deren

Lokalisation im Organismus einem charakteristischen Muster folgt. Sie sind sich in einigen Eigenschaften ziemlich ähnlich, weichen aber in Aminosäurezusammensetzung, Kettenlänge und Molekülformation teilweise voneinander ab (KIVIRIKKO and RISTELI, 1976; KOHN and GLANVILLE, 1980; LINSSENMAYER, 1974, 1981; v. d. MARK et al., 1977; MILLER and MATUKAS, 1974).

- 1.) Kollagen Typ I - ist überall dort zu finden, wo starke mechanische Belastungen auftreten, also in Sehnen, Fascien, im Knochen, im Dentin und in der Epidermis.
- 2.) Kollagen Typ II - kommt nur im Knorpel vor, stellt also ein Erkennungsmerkmal aller Knorpelgewebe dar. Als Ausnahme beim Erwachsenen muß hier der Glaskörper erwähnt werden, der ebenfalls geringe Mengen vom Kollagen Typ II enthält.
- 3.) Kollagen Typ III - entspricht in seiner Verteilung in etwa den Retikulinfasern der klassischen Histologie; man findet es im Organstroma, in den Gefäßwänden, in allen lockeren Bindegewebsformationen und zusammen mit Kollagen Typ I in der Dermis, im Periost und im Perichondrium.
- 4.) Kollagen Typ IV - kommt nur in den Basalmembranen vor.
- 5.) Kollagen Typ V - zeigt eine ähnliche Verteilung wie Typ IV; allerdings findet sich dieser

Kollagentyp vereinzelt an der Oberfläche von Bindegewebszellen und auch Chondrocyten.

Die Proteoglykane (PG) bestehen aus Disaccharidketten, die sulphatiert sind und Aminosucker enthalten. Sie sind über Peptidketten zu größeren Einheiten verknüpft, die durch Vermittlung von Glykoproteinen oder Hyaluronsäure zu noch größeren Einheiten aggregieren können. Zuckerketten, denen die verknüpfende Peptidkette fehlt, werden als Glykosaminoglykane (GAG) bezeichnet (HASCALL, 1981; HASCALL and HASCALL, 1981; LENNARZ, 1980).

Unter normalen in vivo-Bedingungen gehört nur die Hyaluronsäure zu dieser Gruppe. Als Proteoglykane sind die Chondroitinsulfate, das Keratosulfat und das Dermatansulfat bekannt. Auch die Lokalisation der PG und der GAG folgt im Organismus einem typischen Verteilungsmuster. Für das Knorpelgewebe ist zum Beispiel das Vorkommen von Chondroitinsulfaten kennzeichnend (HASCALL, 1977). Auch diese Substanzen werden vorwiegend von ortsständigen Bindegewebszellen gebildet.

Die Synthese beginnt mit dem Proteinanteil im rER, wobei allerdings sofort der Anfang der Zuckerketten mitgebildet wird. Die endgültige Verlängerung der Zuckerketten und die Sulfatierung erfolgt dann im Golgi-Apparat. Die Ausschleusung geht wie beim Kollagen beschrieben über Sekretgranula vor sich. Die bisherigen Befunde sprechen dafür, daß die Sekretgranula sowohl Kollagen als auch PG enthalten. Die Ausschleusung erfolgt also gemeinsam. Diesem Sekretionsmechanismus gehorcht auch die Hyaluronsäure. Wegen des Fehlens des Proteinanteils ist aber der eigentliche Mechanis-

mus und auch der Ort der Synthese noch umstritten (DORFMAN, 1981; KIMURA et al., 1979).

Der dritte Bestandteil des bindegewebigen Interzellularraumes - die Glykoproteine - ist schließlich ebenfalls ein Produkt der Bindegewebszellen. Die Synthese und die Sekretionsvorgänge entsprechen den bisher geschilderten Verhältnissen. Von den Glykoproteinen des Bindegewebes sind bisher nur das FIBRONEKTIN, das CHONDRONEKTIN und das LAMININ genauer untersucht worden. Während Fibronectin ubiquitär im Bindegewebe vorkommt, findet sich Laminin nur in den Basalmembranen und Chondronektin nur im Knorpel (BARRACH et al., 1980; KÜHN et al., 1982; YAMADA, 1981).

Das typische Verteilungsmuster der verschiedenen Kollagenarten, der PG/GAG sowie der Glykoproteine machen es wahrscheinlich, daß jeweils ein bestimmtes Spektrum dieser drei Substanzen von den Zellen einer Lokalisation produziert wird. Die dafür verantwortlichen Chromosomenabschnitte werden deshalb offenbar immer gleichzeitig aktiviert. Es ist deshalb anzunehmen, daß dadurch ein ortstypisches Spektrum dieser Substanzen entsteht.

Die Synthese einer charakteristischen Interzellularsubstanz scheint in den meisten Arealen - wenn einmal geprägt - lebenslang abzulaufen. Unter pathologischen und experimentellen Bedingungen gibt es jedoch einige Ausnahmen (Literatur siehe z.B. HUNTER and FINLAY, 1973; VOGEL, 1973). Das bekannteste Beispiel stellt der Knorpel dar. Bei einwirkenden Schädigungen unterschiedlichster Art und beim Versuch der Regeneration verlassen die Knorpelzellen ihre typische Differenzierungsrichtung und beginnen, eine

unspezifische Bindegewebsmatrix zu bilden, die Kollagen Typ I und Kollagen Typ III sowie ein PG/GAG-Spektrum enthält, das dem des normalen lockeren Bindegewebes entspricht (Literatur siehe GEILER and FRANKE, 1983; GRUNDMANN et al., 1980). Die Möglichkeit einer derartigen Veränderung des Syntheseproduktes konnte auch in Zellkulturen bestätigt werden. Isoliert man Knorpelzellen und läßt sie in der Kultur wachsen, so produzieren sie zwar noch einige Tage eine knorpelspezifische Matrix (Kollagen Typ II und Chondroitinsulfat-reiche PG). Sie verändern jedoch dann ihre Syntheseprogramme und enden als fibroblastenähnliche Zellen, die vorwiegend Kollagen Typ I und Kollagen Typ III sowie Fibronektin herstellen (GRUNDMANN et al., 1980). Daneben gibt es noch einige weitere Beispiele von einer Veränderung des Produktionsprogrammes, die jedoch schlechter zu beurteilen sind. So kann angenommen werden, daß bei Fibrosen innerer Organe die Bindegewebszellen vermehrt Kollagen Typ I bilden. Da die Synthese von Kollagen Typ III trotzdem weiterläuft, handelt es sich hier mehr um ein Problem der quantitativen Regulation als um eine qualitative Umschaltung.

Die Möglichkeiten solcher Regulationen und Umschaltungen sind natürlich besonders dann von Interesse, wenn man sie unter therapeutischen Gesichtspunkten sieht. Beeinflussungen des Syntheseverhaltens von Bindegewebszellen könnten als therapeutische Ansätze zur Behandlung z.B. von Fibrosen und Arthrosen dienen. Dazu ist es aber notwendig, gute Modelle für weitere Versuche in die Hand zu bekommen. Nun gibt es zwar - wie oben beschrieben - Modelle, die eine Veränderung des Syntheseverhaltens in Richtung auf pathologische Gewebsveränderung zu imitieren vermögen. Kenntnisse über eine Veränderung von Mesenchym- oder

Bindegewebszellen in umgekehrter Richtung stehen aber bisher noch nicht zur Verfügung. Hier ist besonders an die Möglichkeit zu denken, Bedingungen zu finden, unter denen Bindegewebszellen in Zellen mit einem knorpelähnlichen Verhalten umgewandelt werden können. Jeder Befund, der eine Umwandlung in dieser Richtung zeigt, könnte deshalb einen Beitrag zur therapeutischen Nutzung darstellen.

Bei Untersuchungen über die Entstehung und die Reifung des Mesenchyms und dessen Abkömmlinge wurden in diesem Institut Hinweise für eine Umwandlung von unspezifischen Bindegewebszellen zu Knorpelzellen gefunden. Zunächst produzieren diese Zellen eine sehnähnliche Interzellulärsubstanz. Erst später schalten sie dann auf die Produktion eines Knorpelkollagens um. Dieser interessante Befund soll in der hier vorgelegten Arbeit genauer beschrieben und vertieft werden.

Das Meniscus-Gewebe ist aber auch noch aus anderen Gründen interessant. Aus klassisch-histologischer Sicht stellt der Meniscus einen Faserknorpel dar, d.h. er enthält in einer Matrix, die typisch für straffes Bindegewebe ist, Chondrone (Knorpelzelle und Kapsel mit dünnem Hof)((BULLOGH et al., 1970; DRAENERT and SCHENK, 1976; EGNER, 1982; GHADIALLY et al., 1978; SCHALLOCK, 1939; SCHWARZ, 1978; TOBLER, 1933; WAGNER, 1976; O'CONNOR, 1976; YASUI, 1978)). Wenn dieses Bild stimmt, dann ist die Frage zu stellen, wie Knorpelzellen, die eine knorpelspezifische Matrix produzieren, in der Lage sind, den Stoffwechsel einer völlig unterschiedlich zusammengesetzten Matrix zu vollziehen. Sie müßten das gesamte Spektrum der Bestandteile aus beiden Bindegewebstypen bilden und verstoffwechseln. Es wäre

dann aber weiter zu fragen, wieso es zu einer derart präzisen geographischen Trennung der beiden Bestandteile kommt. Zweifellos existiert hier ein Problem, das noch nicht auf dem Boden der modernen Bindegewebsforschung durchdacht und bearbeitet worden ist. Eine genaue Beschreibung dieser Verhältnisse würde als Grundlage für solche Überlegungen sehr nützlich sein.

Die Untersuchungen dieses Gewebes erscheinen um so nützlicher, als die Zahl der elektronenmikroskopischen Untersuchungen des Meniscus sehr gering ist und vorwiegend pathologische Gesichtspunkte berücksichtigt (CELEN, 1937; EGNER, 1982; GROH, 1954; KÖNN and OELLIG, 1980; SCHAER, 1938). Eine feinstrukturelle Analyse der Entwicklung des Meniscus und des Bildes im Erwachsenen Zustand bei kleinen Laboratoriumstieren liegen noch nicht vor. In der folgenden Arbeit soll diese Lücke geschlossen werden. Mit immunfluoreszenzmikroskopischer und elektronenmikroskopischer Technik soll deshalb der Meniscus der Maus während der Entwicklung und im ausgereiften Zustand untersucht werden, um zu den aufgeworfenen Fragen Stellung nehmen zu können.

2.0 Material und Methoden

Das untersuchte Material entstammte von einem NMRI-Inzuchtstamm (Neville Marine Research Institute), der unter kontrollierten Lebens- und Ernährungsbedingungen gehalten wurde. Das zu untersuchende Material wurde verschiedenen Altersgruppen entnommen:

Tag 15, 17 und 18 der Schwangerschaft,

Tag 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 und 48 postnatal.

Nach Eröffnung des Kniegelenkes - ohne weitere Präparationsmanipulationen - erfolgte die sofortige Fixierung in folgenden Lösungen:

1.) Methode nach KARNOVSKY:

3 % Glutaraldehyd und 3 % Paraformaldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer (pH 7,2), gefolgt von einem Auswaschen in Pufferlösung und einer Postfixation in 1 % Osmiumtetroxyd (OsO_4) in Cacodylatpuffer.

2.) Fixierung mit Tannin:

1 % Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer (pH 7,2) plus 1 % Tanninsäure; Waschen und Postfixation wie unter 1.) beschrieben.

3.) Fixierung mit Rutheniumrot (RR):

3 % Glutaraldehyd und 3 % Paraformaldehyd
in 0,1 M Cacodylatpuffer (pH 7,2) plus
0,15 % RR; Waschen in Pufferlösung und
Nachfixierung mit 2 % OsO_4 plus 0,15 % RR.

Nach sechsständiger Fixierung und zweistündiger Nachfixierung wurden unter dem Lupenmikroskop dem embryonalen Material dann die Kniegelenke entnommen und in dieser Form weiterbehandelt. Bei dem postnatalen Material dagegen wurden die Menisci gezielt isoliert excidiert. Daran schloß sich die Entwässerung in der Acetonreihe und die Einbettung in Micropal (Fa. Ferak, Berlin) an. Die Schnitte für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden mit LKB-Ultratome und Reichert-Ultramikrotome hergestellt. Als Kontrastmittel kamen Uranylacetat und Bleicitrat zur Anwendung. Die Untersuchungen erfolgten mit einem Siemens Elmiskop 101 und einem Zeiss Elektronenmikroskop 10. Zur lichtmikroskopischen Kontrolle wurden von dem Micropal-eingebetteten Gewebe etwa $1\ \mu$ dicke Schnitte hergestellt und für eine Minute bei $60\ ^\circ\text{C}$ mit einer alkalischen Giemsa-Lösung gefärbt.

Die immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurden an gefriergeschnittenem Material durchgeführt (Einzelheiten siehe BARRACH et al., 1980). Der Nachweis der Antigenstelle erfolgte durch die indirekte Immunfluoreszenztechnik nach von der MARK et al. (1976). Dabei wurden Antikörper gegen Kollagen Typ I, II, III gegen Fibronectin und Knorpelproteoglykane (LINK-Protein) verwendet. Kollagen Typ I und Prototyp III konnten aus der Haut neugeborener Mäuse (SMITH et al., 1977), das Kollagen Typ II und das Proteoglykan aus einem Rattenchondrosarkom (SMITH et al.,

1975), das Fibronektin aus Rattenserum (ENGVALL et al., 1977) gewonnen werden. Diese Substanzen wurden in die Lymphknoten der Hinterpfote von Kaninchen eingespritzt, und die erhaltenen Antikörper immunabsorbiert und auf Monospezifität nach der Methode von GOSSLAU and BARRACH (1979) getestet. Nach Koppelung der Antikörper an die Gefrierschnitte erfolgte der Nachweis ihrer Lokalisation durch fluoreszierende Antikörper gegen IgG. Als Fluoreszenzmikroskop benutzten wir das Zeiss EM 10-Gerät.

Für die Herstellung der Antikörper und die Durchführung der Immunfluoreszenzmikroskopie danken wir Herrn Dr. H.-J. BARRACH (Institut für Toxikologie und Embryonalpharmakologie der Freien Universität Berlin).

3.0 Befunde

3.1 Allgemeine Bemerkungen zur Entwicklung der unteren Extremität bei Mäusen

Zum besseren Verständnis der in der folgenden Beschreibung geschilderten Befunde sollen die Grundzüge der Gelenkentwicklung im Kniebereich kurz zusammenfassend dargestellt werden. Unter der Voraussetzung, daß die ersten 24 Stunden nach der Befruchtung als Tag Null bezeichnet werden, beginnt die äußerlich sichtbare Extremitätenentwicklung der Maus am frühen Tag 10 der Schwangerschaft. Am Tag 11 ist das sogenannte Flossenstadium voll ausgebildet. Die flache Extremitätenknospe zeigt aber weder innerlich noch äußerlich eine Gliederung im Sinne der Skelettentwicklung.

Histologisch besteht der Kern dieser Knospe aus einem gleichmäßig aufgebauten Mesenchym von mittlerer Dichte. Am frühen Tag 12 beginnt sich in den proximalen Bereichen der sich verlängernden Knospe eine Verdichtung des Mesenchyms im Zentrum abzuzeichnen. Es entsteht hier das Blastem für den Humerus. Während am Ende des Tages 12 die Handplatte sich zu formen beginnt, bilden sich die Blasteme auch in den distalen Bereichen. Am frühen Tag 13 ist dann das gesamte Skelettsystem der unteren Extremität blastemartig vorgebildet. Gleichzeitig beginnt am frühen Tag 13 im Femurbereich die Produktion der knorpeligen Interzellulärschubstanz. Am späten Tag 13 entsteht auch im Bereich von Tibia und Fibula die Knorpelbildung. Am Tag 14, spätestens aber am frühen Tag 15 liegt ein voll ausgebildetes Knorpelskelett vor. Vom späten Tag 15 an beginnt die

Ausbildung der desmalen Knochen im cranialen Bereich noch am selben Tage, schnell gefolgt von der Bildung der perichondralen Knochenmanschetten um den Humerus und den Femur.

Die nächsten Tage sind charakterisiert durch die Vorgänge der chondralen Osteogenese im diaphysären Bereich der langen Röhrenknochen. Epiphysäre Knochenkerne werden histologisch erst 10 Tage nach der Geburt faßbar. Die Epiphysenfugen schließen sich 30 bis 40 Tage nach der Geburt.

3.2 Histologie

Konzentriert man sich bei der lichtmikroskopischen Untersuchung der Extremitätenentwicklung auf die Region des Kniegelenkes, so lassen sich folgende Ereignisse beschreiben:

Im Verlaufe des Tages 12 entwickeln sich die bereits beschriebenen Blasteme von Femur, Tibia und Fibula. Diese Gewebe sind durch eine dichte Zellpackung runder bis polygonaler Zellen gekennzeichnet. Im Bereich zwischen Tibia und Femur liegt ein aufgelockertes Mesenchym, das sich durch seine geringere Zelldichte und damit durch die Weite der Interzellularräume sowie durch Zellen mit unregelmäßiger Form von den anliegenden Blastemen unterscheidet.

Am Tag 13 ist das Bild dieser Zonen zwischen den Blastemverbänden relativ unverändert. Allerdings beginnt sich jetzt - bereits lichtmikroskopisch erfaßbar - die knorpelige Interzellularsubstanz in den vorher blastemartig

aufgebauten Bezirken auszubreiten.

Am Tag 14, besonders aber am Tag 15, lassen sich in der sogenannten Interzone zwischen den sich immer schärker abgrenzenden Knorpelstücken vermehrt Zellnekrosen nachweisen. Am Tag 15 sind erste Hohlräume - die Vorläufer der Gelenkhöhle - sicher zu erfassen.

An den Oberflächen der zunächst spaltförmigen Hohlräume können sich die bisher noch locker gepackten Mesenchymzellen der Interzone flach und endothelartig anordnen. Zur Peripherie des Gelenkes hin läuft dieser prospektive Gelenkspalt Y-förmig aus, d.h. bereits zu diesem Zeitpunkt wird die Meniscusanlage aus der vorher einheitlichen Interzone herausmodelliert. Am Tag 16 ist die Demarkation der Menisci durch schmale zusammenhängende Hohlräume deutlich vollzogen. Während zu diesem Zeitpunkt die Meniscusanlage noch aus einem lockeren Mesenchym besteht wie die frühere Interzone, nimmt bereits am späten Tag 16 die Zahl der Zellen, ihre Größe und die Menge der Faserstrukturen deutlich zu. Am Tag 17 besteht die Meniscusanlage aus großen plumpen Fibroblasten, die eine straffe, bindegewebige Interzellulärsubstanz produziert haben. Dieses Bild ändert sich bis zur Geburt und den Tagen danach nicht mehr wesentlich. Lichtmikroskopisch lassen sich keine Hinweise für die Entwicklung eines Faserknorpels, d.h. von Zellen mit Knorpelkapsel und Knorpelhöfen, erfassen.

Erst ab Tag 10 nach der Geburt ändert sich das Bild erneut. Zu diesem Zeitpunkt nämlich treten auch lichtmikroskopisch sichtbar Zellen auf, die durch ihre runde Form und ihre Um-

hüllung mit einem kapselartigen Gebilde als Knorpelzellen bzw. Chondrone bezeichnet werden können. Solche Zellen liegen weniger an der Oberfläche als in den inneren Bereichen des Meniscus. Mit dem Auftreten dieser Zellen ist die endgültige Ausreifung der Menisci im lichtmikroskopischen Bereich abgeschlossen, eine Veränderung tritt in der Folgezeit nicht mehr ein.

3.3 Fluoreszenzmikroskopie

Während des Blastemstadiums zeigt die Interzone des späteren Kniegelenkes, aus der sich später auch der Meniscus entwickelt, ein sehr unspezifisches Reaktionsverhalten gegenüber den von uns verwendeten Antikörpern (Kollagen Typ I, III, IV, Laminin, Basalmembran-Proteoglykan und knorpelspezifisches Proteoglykan). Zu diesem Zeitpunkt (Tag 11 und zum Teil auch Tag 12) binden in geringer Menge Antikörper nur gegen Prokollagen Typ III und gegen einige Basalmembrankomponenten im Bereich der perivaskulären und subepithelialen Basalmembran. Mit dem Beginn der Knorpelbildung ändert sich das Bild. Im Knorpel tritt jetzt Kollagen Typ II und knorpelspezifisches Proteoglykan in großer Menge auf. Die Interzone bzw. die sich abgrenzende Meniscusanlage zeigt, wenn überhaupt, bei den verschiedenen Antikörpern geringe Bindungstendenzen.

Erst am Tag 16 beobachten wir eine kräftigere Anfärbung, die sowohl auf einen hohen Gehalt an Prokollagen Typ III und Kollagen Typ I als auch auf knorpelspezifisches Proteoglykan hinweisen. Dieses eigentümliche Reaktionsmuster bleibt bis nach der Geburt erhalten. Erst dann, d.h. mei-

stens erst ab Tag 10 nach der Geburt, treten ringartige Strukturen auf, die eine deutliche Reaktion gegenüber Kollagen Typ II zeigen. Gleichzeitig verringert sich etwas die diffuse Reaktion gegenüber dem knorpelspezifischen Proteoglykan, das sich jetzt aber mit den fluoreszenzmarkierten Antikörpern deutlich um die knorpelähnlichen Zellen nachweisen läßt. Diese Lokalisation stimmt mit dem Typ II-positiven Ring um diese Zellen überein.

Es fällt nach diesen Bildern nicht schwer, diese Ringe mit den Knorpelkapseln in Verbindung zu bringen, die zu diesem Zeitpunkt lichtmikroskopisch ebenfalls nachweisbar werden.

3.4. Elektronenmikroskopie

Im Elektronenmikroskop besteht die sogenannte Interzone aus einem lockeren Verband mesenchymaler Zellen. Die Form der Zellen wechselt in Abhängigkeit der Lokalisation. Knorpelnahe finden wir einen allmählichen Übergang zu typischen Knorpelzellen, d.h. diese Zellen sind mehr plump-oval und zeigen nur eine geringe Fortsatzneigung. Zwischen den Knorpelstücken des Ober- bzw. Unterschenkels ist die Form der Zellen deutlich unregelmäßiger, wenn auch die Längsachsen der Zellen in Übersichtsaufnahmen deutlich senkrecht zur Längsachse der Knochenanlage ziehen. Diese Vorzugsrichtung vorausgesetzt, finden sich aber trotzdem ausgeprägte Fortsatzbildungen nach allen Richtungen. Cytologisch sind diese Zellen durch einen großen abgerundeten Kern mit einem vorwiegend aufgelockerten Karyoplasma charakterisiert. Ein großer Nukleolus kann ebenso vorkommen wie mehrere kleine Randchromatinbezirke.

Im Cytoplasma überwiegen freie Ribosomen, die gruppiert in Form von Polysomen vorkommen. Daneben liegen einige kleine Mitochondrien vom Cristae-Typ, kurze Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums und nur wenige Vesikel. Der Interzellularraum ist bei der üblichen Präparationstechnik weitgehend leer. Vereinzelt finden sich regellos verlaufende, dünne, kollagene Fibrillen (150 bis 200 Å).

Im Laufe der weiteren Entwicklung vergrößern sich in den Gebieten, in denen später sich die Gelenkhöhle entwickelt, d.h. die Interzellularräume. Bei Anwendung der Rutheniumrot-, besonders aber der Tannin-Fixierung zeigt sich, daß in diesen erweiterten Interzellularräumen vermehrt granuläre Strukturen auftreten, von denen Filamente ausstrahlen oder die in dünne Filamente auslaufen.

Nach bisher unveröffentlichten Befunden dieser Arbeitsgruppe (MERKER, persönliche Mitteilungen) handelt es sich dabei mit großer Wahrscheinlichkeit um Hyaluronsäure. Man kann sich also vorstellen, daß durch eine vermehrte Hyaluronsäureproduktion vermehrt Wasser gebunden wird, wodurch die Interzellularräume erweitert werden. Der Zusammenfluß solcher erweiterten Interzellularräume ist sicher ein wichtiger Faktor bei der Gelenkhöhlenbildung. Ein weiterer Faktor, der morphologisch sicher zu erfassen ist, stellt zweifellos das Abfließen von nekrotischen Vorgängen im Bereich der sich entwickelnden Gelenkhöhle dar. Ohne auf die Gelenkhöhlenbildung näher einzugehen, kann gesagt werden, daß diese Vorgänge auch bei der Abgrenzung der Menisci von der zunächst noch zusammenhängenden Interzone nachgewiesen werden können.

Die durch den immer deutlicher werdenden Gelenkspalt zunehmend abgegrenzten Menisci machen von diesem Zeitpunkt an eine eigene Entwicklung durch. Zunächst stehen drei Vorgänge im Vordergrund der morphologischen Befunderhebung:

- 1.) Proliferation der Zellen,
- 2.) Differenzierung der Zellen,
- 3.) Produktion einer Interzellulärsubstanz.

Ad 1.): Im Vergleich mit der früheren und zum Teil noch existierenden Interzone nimmt die Zahl der Zellen im Bereich der Meniscusanlage zu. Zunächst verringert sich dadurch die Größe der Interzellularräume, jedoch ist dieser Parameter wegen der jetzt beginnenden Verformung der Zellen nicht mehr sicher zu beurteilen.

Ad 2.): Die eben erwähnte Veränderung der Zellform kann auch als erstes Zeichen der beginnenden Differenzierung aufgefaßt werden. Die langgestreckten, häufig polymorphen Zellen mit vielen unterschiedlich geformten Fortsätzen wandeln sich zu relativ plumpen, ovalen Zellen um. Die Zahl und die Ausprägung der Fortsätze verringern sich dabei deutlich. Das Plumperwerden der Zellen bei gleichzeitigem Verstreichen der Fortsätze geht mit einer Zunahme des Cytoplasmavolumens einher, d.h. die Kern-Plasma-Relation verschiebt sich zugunsten des Plasmas. Parallel zu dieser Formänderung treten im Cytoplasma vermehrt membranbegrenzte Hohlräume des rauen endoplasmatischen Retikulums auf. Auch die Ausprägung und Größe des Golgi-

Apparates nehmen zu, ebenso die Zahl und die Größe der Mitochondrien vom Cristae-Typ. Der Kern paßt sich der neuen Zellform an und wird ebenfalls plump-oval. Das Karyoplasma bleibt weiterhin aufgelockert homogen, allerdings vergrößert sich der Nukleolus. Am Ende dieses Differenzierungsvorganges entspricht die Struktur der Zellen in der Meniscusanlage charakteristischen eiweißproduzierenden und auch sezernierenden Zellen, z.B. Fibroblasten.

Ad 3.): Mit den bisher beschriebenen Veränderungen der Zellformen und der intrazellulären Strukturen geht ein vermehrtes Auftreten von Strukturen des Interzellularraumes einher. Mit den verschiedenen Präparationsmethoden (Tannin-, Rutheniumrot-Fixierung) lassen sich mehrere Strukturtypen unterscheiden. Am deutlichsten gelingt bei allen Präparationsbedingungen die Darstellung des Kollagens. Es handelt sich um langgestreckte, überwiegend gradlinig verlaufende Filamente oder Fibrillen, die zunächst einzeln, dann aber zunehmend gebündelt vorkommen. Die einzeln verlaufenden Kollagenstrukturen haben eine Dicke von 100 bis 200 Å und weisen auch bei sehr hohen Vergrößerungen keine Querstreifung auf. Nach der von uns benutzten Nomenklatur bezeichnen wir die dünnen Kollagenstrukturen ohne Querstreifung als Filamente. Erst ab einer Dicke von etwa 180 Å wird die Querstreifung zunehmend deutlicher; erst dann kann von Fibrillen gesprochen werden.

Am Tag 18 finden sich zwischen den plumpen, hochdifferenzierten Zellen der Meniscusanlage vorwiegend Fibrillen, die parallel verlaufend gebündelt sind. Die Dicke der Einzelfibrillen schwankt zwischen 200 und 300 Å. Die Entfernung zwischen den Rändern der Einzelfibrillen in einem Bündel beträgt an der schmalsten Stelle etwa 200 - 300 Å. Die Zahl der Fibrillen, die ein Bündel aufbauen, wechselt in erheblichen Grenzen. Man findet kleine Bündel mit fünf parallel verlaufenden Fibrillen neben großen Bündeln, die bis zu 50 Fibrillen enthalten können.

Nach vollzogener Abgrenzung der Meniscusanlagen von der Interzone ordnen sich die plump-ovalen Fibroblasten vorwiegend parallel zu den Oberflächen an. Die Bündel wiederum verlaufen parallel zu den Längsachsen der Zellen, dadurch ergibt sich eine parallel-faserige Textur, die von den Oberflächen geprägt wird. Nur im Zentrum der Menisci und dort, wo sie am Band- bzw. Kapselapparat angeheftet sind, ist die Textur, d.h. der Verlauf der Fibrillenbündel unübersichtlich und verflochten.

Nach Rutheniumrot-Fixierung läßt sich eine zweite Strukturkomponente der Interzellulärsubstanz in den Meniscusanlagen darstellen. Es handelt sich um 400 - 600 Å große Granula von hoher Elektronendichte. Die Granula können rund, zipfelig ausgezogen oder polygonal sein. Von diesen zentralen Granula strahlen einzelne oder mehrere dünne Filamente unterschiedlich weit in die Umgebung aus. Ihre Dicke kann am Anfang bis zu 100 Å betragen, sie verringert sich jedoch bald bis auf unter 50 Å. Diese feinen Filamente benachbarter Granula berühren sich häufig. Die Entfernung zwischen den Granula beträgt in den fibrillenfreien Räumen 2 000

bis 3 000 Å. In niedriger Vergrößerung entsteht dabei der Eindruck, als ob diese Granula die Regionen außerhalb der kollagenen Bündel in annähernd gleichmäßiger Verteilung ausfüllten. Darüber hinaus sitzen diese Strukturen aber auch den kollagenen Fibrillen direkt auf. Diese räumliche Beziehung muß hoch geordnet sein, denn es findet sich ein regelmäßiger Abstand der aufsitzenden Granula von etwa 700 Å. Die den kollagenen Strukturen direkt aufsitzenden Rutheniumrot-positiven Granula sind häufig kleiner und haben eine kommaförmige Gestalt.

Nach Anwendung der Tannin-Fixierung heben sich die kollagenen Fibrillen und ihre Querstreifung besonders deutlich hervor. Die beschriebenen Rutheniumrot-positiven Granula dagegen sind nicht mehr sicher nachweisbar. Die schlechtere Darstellbarkeit beruht zum Teil auf dem zusätzlichen Auftreten kleinerer granulärer Elemente und feiner (50 Å) Filamente mit unregelmäßigem Verlauf. Solche Tannin-positiven Granula und Filamente können stellenweise relativ gleichmäßig verteilt sein, an den Oberflächen von kollagenen Fibrillenbündeln gehäuft vorkommen oder aber in Plaques konzentriert vorkommen.

Dieses Bild, das für den Tag 18 vorangehend eingehender beschrieben wurde, ändert sich zunächst im Verlaufe der ersten Woche nach der Geburt nicht. Allerdings nimmt die Zahl der kollagenen Fibrillen und damit die Größe sowie die Packungsdichte der kollagenen Bündel laufend zu.

Zehn Tage nach der Geburt ist dann der gesamte Interzellularraum der Meniscusanlage vollständig von kollagenen Fibrillenbündeln ausgemauert. Parallel zu dieser Entwicklung

kann eine Zunahme der Fibrillendicke registriert werden. Ihr Durchmesser schwankt jetzt zwischen 300 und 500 Å. Von diesem Zeitpunkt an (Tag 10, postnatal) werden im zellulären und perizellulären Bereich der Meniscusanlage deutliche Veränderungen registriert. Solche Veränderungen laufen vorwiegend in den zentralen Bereichen ab. Die sogenannten Anheftungsbezirke und die oberflächlichen Zonen zeigen sie nicht oder nur in geringem Maße. An diesen Stellen überwiegen auch später im Erwachsenenenzustand typische Fibrocyten mit verzweigten Fortsätzen, die fest in die kollagene Fasertextur eingebaut sind.

In den mehr zentraleren Bezirken dagegen kommt es jetzt zu einer erneuten Umformung der Zellen. Bei geringerer Vergrößerung stellen sie sich als rund oder oval dar. Bei höherer Vergrößerung zeigt sich aber, daß die Zellmembran zahlreiche zipfelförmige oder mikrovilliartige Fortsätze bildet. Es gibt allerdings auch Zellen, bei denen die Membran völlig glatt verläuft. Parallel zu dieser Veränderung der Zellform tritt eine Veränderung der perizellulären Zone auf. Bisher wurde die Umgebung der Zellen durch das Vorkommen von gradlinig verlaufenden kollagenen Fibrillenbündeln und locker verteilter Rutheniumrot-Granula geprägt. Jetzt häufen sich solche Rutheniumrot-Granula in Zellnähe besonders stark an; gleichzeitig treten dünnere kollagene Fibrillen auf, die einzeln und regellos, jedoch vorwiegend oberflächlich parallel verlaufen. Dazu kommen ebenfalls einzeln und regellos verlaufende Filamente unterschiedlicher Dicke (20 bis 150 Å), die sich besonders nach Tannin-Fixierung hervorheben. Die dichte Packung dieser beschriebenen Strukturen im perizellulären Raum geben - besonders bei niedriger Vergrößerung - dieser Zone ein kapselförmiges Aussehen. Diese

Kapsel zeigt in Abhängigkeit vom Reifungsstadium und in Abhängigkeit der Lokalisation deutliche Dickenvariation. Zunächst finden sich nur sehr schmale Kapselbezirke mit einer Dicke von 2 000 bis 5 000 Å. Bei vielen Zellen ist in den nächsten Wochen eine allmähliche Zunahme dieses Wertes zu erfassen. Etwa um den Tag 40 herum wird dann das endgültige Bild erreicht. Allerdings finden sich auch zu diesem Zeitpunkt, d.h. beim erwachsenen Tier, noch Zellen, die nur ganz dünne Kapseln aufweisen.

Abgesehen von der durch die Formänderung der Zellen bedingte Umgruppierung der Zellorganellen ändert sich an dem strukturellen Aufbau des Cytoplasmas nichts Wesentliches. Auch in völlig abgerundeten Zellen mit ausgeprägten Kapselbezirken, die schon als Höfe zu bezeichnen sind, fallen das reichlich entwickelte rauhe endoplasmatische Retikulum, ein ausgeprägter Golgi-Apparat und zahlreiche Vesikel, Vakuolen und einzelne Granula auf. Der Kern paßt sich der Zellform an, ist also rund bis oval. Das Aussehen des Karyoplasmas wechselt. Wir finden einmal wie im perinatalen Zeitabschnitt aufgelockerte Kerne mit deutlich hervortretenden großen Nukleoli, dann aber auch welche, die locker verteilt kleine Heterochromatin-Plaques und kleinere weniger ausgeprägte Nukleoli enthalten; Übergänge kommen vor.

An diesem Bild ändert sich in dem von uns untersuchten Zeitabschnitt, d.h. bis weit in den adulten Zustand hinein, nichts mehr.

4.0 Diskussion

Die Meniscusanlage gliedert sich mit der Entwicklung der Gelenkhöhle aus der zunächst einheitlichen Interzone ab. Von diesem Zeitpunkt an, der bei der Maus etwa dem Tag 16 der Schwangerschaft entspricht, beschreitet sie jedoch eine selbständige Entwicklungslinie (siehe die ähnliche Entwicklung bei der Ratte von WASSILEW, 1972, genauer beschrieben). Bei lichtmikroskopischer Betrachtung entsteht dabei der Eindruck, als ob sich eine straffe Bindegewebsformation entwickelt. Die immunfluoreszenzmikroskopische und elektronenmikroskopische Untersuchung ergeben jedoch Befunde, die nicht den vergleichbaren Verhältnissen an anderen straffen Bindegeweben entsprechen. Das Vorkommen von Kollagen Typ I war zweifellos zu erwarten. Dieser Kollagentyp kommt überall dort vor, wo straffes Bindegewebe gebildet wird bzw. vorhanden ist. Ungewöhnlich ist aber das Vorkommen knorpeltypischer Proteoglykane (ROUGHLY et al., 1981). Es muß deshalb vermutet werden, daß die Mesenchymzellen unterschiedliche Syntheseprogramme besitzen. Bisher wurde angenommen, daß Zellen, die Kollagen Typ I synthetisieren, nicht gleichzeitig knorpelspezifische Proteoglykane bilden können. Umgekehrt produzieren Knorpelzellen neben diesen Proteoglykanen nur Kollagen Typ II (zu dieser Problematik siehe BARRACH et al., 1980, 1981). Unsere Befunde sprechen aber für die Möglichkeit einer gemeinsamen Produktion von Kollagen Typ I und knorpelspezifischen Proteoglykanen. Natürlich könnte es sich hier um ein Artefakt oder eine unspezifische Anfärbung handeln, dagegen sprechen aber eindeutig die elektronenmikroskopischen Befunde. Man sieht nach Rutheniumrot-Färbung eine Fülle von elektronendichter Granula, die in allen Einzelheiten der Proteoglykangranula in der Knorpel-

matrix entsprechen (MERKER and GÖNTHER, 1973). Auch im Hinblick auf den Kollagentyp entspricht das elektronenmikroskopische Bild den immunfluoreszenzmikroskopischen Befunden.

Bereits am Tag 18 finden wir ausgeprägte Bündel mit parallel verlaufenden, relativ dicken Fibrillen. Dieses Bild ist typisch für das straffe Bindegewebe bzw. Typ-I-Kollagen auch in anderen Regionen in einem vergleichbaren Entwicklungsstadium. Es kann deshalb kein Zweifel bestehen, daß die immunfluoreszenzmikroskopischen Befunde den tatsächlichen Verhältnissen entsprechen. Ein Syntheseprogramm, bei dem gleichzeitig Kollagen Typ I und knorpelspezifische Proteoglykane gebildet werden, ist also im Faserknorpel möglich, wenn auch bisher noch nicht beschrieben.

In den folgenden Wochen muß sich dann dieses Programm erneut ändern. Zusätzlich tritt jetzt noch Kollagen Typ II auf. Die Verteilung dieser verschiedenen Bestandteile hat sich aber deutlich gewandelt. Während Kollagen Typ I noch in den meisten Bereichen der Interzellulärsubstanz anzutreffen ist, konzentriert sich das Kollagen Typ II und das knorpelspezifische Proteoglykan in einer kapselförmigen Zone um die zentralen Zellen im Meniscus. Da diese Zellen jetzt morphologisch das Aussehen von Chondrocyten annehmen und eine Kapsel aus Kollagen Typ II und knorpelspezifischen Proteoglykanen zeigen, scheint es berechtigt, hier von Chondronen und Knorpelzellkapseln bzw. bei größerer Dicke auch von Höfen zu sprechen.

Dieser Befund - die Umwandlung des Syntheseprogrammes von Mesenchymzellen durch zusätzliches Auftreten von Kollagen

Typ II - erscheint auf dem Hintergrund dieser bisherigen Erfahrung außerordentlich ungewöhnlich. Bisher gibt es keinen Fall, bei dem dieses Verhalten beschrieben wurde.

Der umgekehrte Vorgang dagegen - die Veränderung des Syntheseprogrammes von Kollagen Typ II nach Kollagen Typ I - ist gut bekannt. Diese Programmänderung läßt sich besonders eindeutig in der Kultur studieren (Literatur siehe GRUNDMANN et al., 1980).

Kultiviert man isolierte Chondrocyten in einer monolayeren Kultur, dann geht zunächst für einige Tage die Produktion einer knorpelspezifischen Matrix weiter. Am Tag 8 kippt das System aber um, und die Zellen beginnen mit der Produktion von Kollagen Typ I. Gleichzeitig bilden sie sich zu fibroblastenähnlichen Zellen um. Diese Richtungsänderung der Differenzierung vom Knorpeltyp zum Fibroblastentyp scheint also sehr viel leichter möglich zu sein als umgekehrt. Darauf beruht zu einem Teil auch die Schwierigkeit, Knorpeldefekte zu füllen.

Von diesem Verhalten gibt es bisher nur eine bekannte Ausnahme. Kultiviert man Blastemzellen aus den Skelettanlagen von Extremitätenknospen in einer monolayeren Schicht, so entwickeln sich fibroblastenähnliche Zellen (eingehende Beschreibung dieser in vitro-Versuche siehe MERKER et al., 1980). Isoliert man diese Zellen bis zu drei Tagen nach der Aussaat und läßt sie bei hoher Zelldichte erneut in der Kultur wachsen, so entwickelt sich typisches Knorpelgewebe mit Kollagen Typ II und spezifischen Proteoglykanen.

Voraussetzung ist aber, daß diese Zellen zunächst breitflächigen Kontakt zueinander haben. Dieses Modell kann aber zur Erklärung des am Meniscus beschriebenen Phänomens einer Veränderung des Synthespektrums nicht herangezogen werden. In der Meniscusanlage liegen die Zellen isoliert in einer Matrix, die den Kontakt verhindert. Immerhin weist dieses Experiment auf die Möglichkeit der Synthesewandlung in der beschriebenen Richtung hin.

Die beschriebenen Veränderungen während der Entwicklung des Meniscus werfen aber noch einige andere wichtige Fragen auf. Es kann davon ausgegangen werden, daß alle Interzellulärsubstanzen des Bindegewebes sogenannte "turn over"-Vorgänge aufweisen, d.h., es werden ständig Kollagen- und Proteoglykanstrukturen abgebaut und andere aufgebaut. Die "turn over"-Rate ist allerdings sehr unterschiedlich. Die Werte der biologischen Halbwertszeit schwanken nach Untersuchungen mit markierten Substanzen von Tagen bis zu Monaten. Unabhängig von diesem speziellen Problem muß aber trotzdem gefragt werden, wie der "turn over" in den geographisch getrennt liegenden Kollagenstrukturen unterschiedlichen Typs vollzogen und kontrolliert wird. Dieses Problem existiert auch in anderen Faserknorpelarten, z.B. in den sogenannten Bandscheiben.

Es können theoretisch drei Möglichkeiten diskutiert werden:

- 1.) Die Knorpelzellen produzieren nicht nur Kollagen Typ II und spezifische Proteoglykane, sondern auch Kollagen vom Typ I

und die dazu gehörenden Proteoglykane. Damit könnte zwar der notwendige "turn over" aller Bestandteile der Interzellulärsubstanz durchgeführt werden. Nicht erklärt ist damit jedoch, wie die Typ I-Vorstufen die Knorpelkapsel durchdringen, ohne dort dicke Fibrillen zu bilden und warum die Kollagen Typ II-Strukturen räumlich getrennt davon vorkommen.

- 2.) Die zweite Möglichkeit beruht auf der Vorstellung, daß die Fasern zwischen den Chondronen tatsächlich keinen Stoffwechsel mehr aufweisen. Ein derartiges Verhalten ist bisher noch nicht bekannt geworden und daher auch unwahrscheinlich.
- 3.) Als dritte Möglichkeit könnte im Meniscus diskutiert werden, daß weiter entfernt liegende Fibrocyten für diese "turn over"-Funktion verantwortlich sind. Trotz der Kleinheit des Meniscus gerade bei der Maus müßte aber - aus molekularer Sicht - weite Strecken überwunden werden. Für andere Faserknorpelarten (z.B. Bandscheibe) wäre dieser Erklärungsversuch noch unwahrscheinlicher.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß keiner der drei Möglichkeiten mit heutigen Kenntnissen sicher akzeptiert oder abgelehnt werden kann. Hier bieten sich interessante Ansätze zu weiterführenden Untersuchungen mit anderer Methodik: z.B. autoradiographische Untersuchungen und immunmorphologische Darstellung der einzelnen Substanzen innerhalb der Zellen.

5.0 Zusammenfassung

Bei einem NMRI-Mäuseinzuchtstamm wurde am Tag 15, 17 und 18 der Schwangerschaft und an den postnatalen Tagen 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 und 48 die Entwicklung der Menisci im Kniegelenk elektronenmikroskopisch und immunfluoreszenzoptisch untersucht. Als auffälligster Befund stellt sich die Zusammensetzung und das zeitabhängige Verhalten der Interzellularsubstanz dar. Bis zum Tag 10 nach der Geburt enthält diese Matrix neben Kollagen vom Typ I und III, jedoch nicht Typ II, sog. knorpelspezifische Proteoglykane. Elektronenmikroskopisch findet man in diesem Zeitraum fibroblastenähnliche Zellen, parallel gepackte, relativ dicke Fibrillen und Rutheniumrot-positive Granula. Damit können die immunfluoreszenzoptischen Befunde auch im Elektronenmikroskop bestätigt werden. Nach dem Tag 10 tritt um die meisten Zellen noch ringförmig Kollagen vom Typ II auf. Elektronenmikroskopisch entspricht der Kollagen-Typ-II-haltigen und Proteoglykan-reichen Kapsel eine Zone aus dünnen Kollagenfibrillen bzw. Filamenten und Rutheniumrot-positiven Granula. Die Morphologie dieser Zellen entspricht der von Chondrocyten.

Damit besitzt die Interzellulärsubstanz des Meniscus der Maus eine besondere, noch nicht beschriebene Zusammensetzung und macht zeitabhängige Veränderungen durch, die bisher noch nicht bekannt waren. Auf die damit zusammenhängenden Probleme wie Umschaltung des Syntheseprogrammes, Lokalisation der einzelnen Matrixbestandteile und der "turn over" wird in der Diskussion eingegangen.

6.0 Literaturverzeichnis

- ANDERSON, J.C.: Glycoproteins of the connective tissue matrix. - Int. Rev. Conn. Tiss. Res. 7, 252 - 322 (1976)
- ATERMAN, K.: Connective tissue: a eclectic historical review with particular reference to the liver. - Histochem. J. 13, 341 - 396 (1981)
- BALAZS, E.A.: Ed. Chemistry and molecular biology of intracellular matrix. - Acad. Press, London - New York, 1 - 3 (1970)
- BARRACH, H.-J.,:
GRUNDMANN, K.,
HINZ, N.,
and
FELIES, A. Immunfluorescent microscopic investigations of intercellular substances during limb development. In: Teratology of the limbs (eds.: MERKER, H.-J. et al.). - W. de Gruyter-Verlag, Berlin, 273 - 300 (1980)
- BARRACH, H.-J.,:
GRUNDMANN, K.,
HINZ, N.,
and
FELIES, A. Comparision of the differentiation of muscle and connective tissue of mouse limb buds in culture and in vivo: A morphological study by indirect immunofluorescence. In: Culture techniques (eds.: NEUBERT, D. and MERKER, H.-J.). - W. de Gruyter-Verlag, Berlin, 135 - 158 (1981)

- BORNSTEIN, P.: Biosynthesis of collagen. - Ann. Rev. Biochem. 43, 567 - 603 (1974)
- BORNSTEIN, P.: Structurally distinct collagen
and types. - Ann. Rev. Biochem. 49,
SAGE, H. 957 - 1003 (1980)
- BULLOGH, P.G.,: The strength of the menisci of the
MUNNUERA, L.,: knee as it relates to their fine
MURPHY, J., structure. - J. Bone Joint Surg.
and 52 B, 564 - 570 (1970)
WEINSTEIN, A.M.
- CEELEN, W.: Pathologische Anatomie der Menis-
kusschäden. - Arch. Orthop. Un-
fallchir. 37, 334 - 352 (1937)
- DELAUNAY, A.: Mucopolysaccharides, collagen, and
and nonfibrillar proteins in inflam-
BAZIN, S. mation. - Int. Rev. Conn. Tiss.
Res. 2, 301 - 325 (1964)
- DORFMAN, A.: Differential function of connective
tissue cells. In: Chemistry and
molecular biology of the inter-
cellular matrix (ed. BALAZS, E.A.).
Acad. Press, New York, Vol. 3,
1421 - 1448 (1970)

- DORFMAN, A.: Proteoglycan biosynthesis. In: Cell biology of the extracellular matrix (ed. HAY, E.). - Plenum Press, New York - London, 115 - 138 (1981)
- DRAENERT, K.D.: Morphologie und Mechanik der Meniscen. - Hefte Unfallheilk. 128, and
SCHENK, R.K. 1 - 6 (1976)
- EGNER, E.: Knee joint meniscal degeneration as it relates to tissue fiber structure and mechanical resistance. - Path. Res. Pract. 137, 310 - 324 (1982)
- ENGVAL, E.: Binding of soluble form of fibroblast surface protein fibronectin and
RUOSLAHTI, E. to collagen. - Int. J. Cancer 20, 1 - 5 (1977)
- FELLER, B.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Wirkung von Colchizin and
MERKER, H.-J. auf Knorpelgewebe aus Organkulturen von Extremitätenknospen. - Acta Anat. 103, 445 - 460 (1979)
- FIETZEK, P.P.: The primary structure of collagen. and
KÜHN, K. Int. Rev. Conn. Tiss. Res. 7, 1 - 60 (1976)

- FOIDART, J.M.,: Synthesis of fibronectin, laminin,
BERMAN, J.J., and several collagens by a liver-
PAGLIA, L., derived epithelial line. - Lab.
RENNARD, S., Invest. 42, 525 - 532 (1980)
ABE, S.,
PERANTONI, A.,
and
MARTIN, G.R.
- GAY, S.,: Polymorphie des Kollagens. Neue
MÖLLER, P.K., Aspekte für Struktur und Funktion
MEIGEL, W.N. des Bindegewebes. - Hautarzt 27,
and 196 - 205 (1976 a)
KÖHN, K.
- GAY, S.: Collagen in the physiology and
and pathology of connective tissue.
MILLER, E.J. - Gustav Fischer Verlag, New York
 (1978)
- GEILER, G.: Distribution of collagen types I
and - III in articular cartilage and
FRANKE, C. synovial membrane in osteoarthritis.
 - Acta biol. Acad. Sci. Hung., in
 press (1983)
- GHADIALLY, F.N.,: Ultrastructure of rabbit semilunar
THOMAS, I., cartilages. - J. Anat. 125/3,
YONG, N., 499 - 517 (1978)
and
LALONDE, J.M.A.

- GOSSLAU, B.:
and
BARRACH, H.-J. Enzyme-linked immunosorbent micro-
assay for quantification of speci-
fic antibodies to collagen types I,
II, III. - J. Immun. Meth. 29,
71 - 77 (1979)
- GOULD, B.S.: Collagen biosynthesis at the ribo-
somal lead. - Int. Rev. Conn. Tiss.
Res. 4, 35 - 67 (1968)
- GREEN, H.:
and
GOLDBERG, B. Synthesis of collagen by mammalian
cell lines of fibroblastic and non-
fibroblastic origin. - Proc. nat.
Acad. Sci. USA 53, 1360 - 1365
(1965 a)
- GROH, H.: Der Meniskusschaden des Kniegelenks
als Unfall- und Aufbrauchfolge.
- F. Enke Verlag, Stuttgart, 77
(1954)
- GRUNDMANN, K.,:
ZIMMERMANN, B.,
BARRACH, H.-J.,
and
MERKER, H.-J. Behavior of epiphyseal mouse
chondrocyte population in monolayer
culture. Morphological and immun-
histochemical studies. - Virchow's
Arch. (A) 389, 167 - 187 (1980)
- GUSTAVSON, K.H.: The chemistry and reactivity of
collagen. - Acad. Press, New York
(1956)

- HASCALL, V.C.: Interaction of cartilage proteoglycans with hyaluronic acid. - J. Supramol. Struct. 7, 101 - 120 (1977)
- HASCALL, V.C.: Proteoglycans: Structure and function. In: Biology of carbohydrates (ed. GINSBURG, V.). - WILEY, New York, 1, 1 - 49 (1981)
- HASCALL, V.C.: Proteoglycans. In: Cell biology of and the extracellular matrix (ed. HAY, E.). - Plenum Press, New York - London, 39 - 63 (1981)
- HUNTER, J.A.A.: Scanning electron microscopy of and connective tissues in health and FINLAY, B. disease. - Int. Rev. Conn. Tiss. Res. 6, 218 - 256 (1973)
- KIMURA, J.H.,: Biosynthesis of proteoglycans and HARDINGHAM, T.E., their assembly into aggregates in HASCALL, V.C. cultures of chondrocytes from the and Swarm rat chondrosarcoma. - J. Biol. SOLURSH, M. Chem. 254, 2600 - 2609 (1979)
- KIVIRIKKO, K.I.: Biosynthesis of collagen and its and alterations in pathological state. RISTELI, L. - Med. Biol. 54, 159 - 186 (1976)

- KÖNN, G.:
and
OELLIG, W.-P.
Zur Morphologie und Beurteilung der
Veränderungen an den Kniegelenksme-
nischen. - Pathologie 1, 206 - 213
(1980)
- KÖHN, K.:
and
GLANVILLE, R.W.
In: Biology of collagen (eds. VIIDIK,
A. and VUUST, J.). - Acad. Press,
New York, 1 - 14 (1980)
- KÖHN, K.,:
SCHÖNE, H.H.,
and
TIMPL, R. (eds.)
New trends in basement membrane
research. - Raven Press, New York
(1982)
- LAMBERG, S.I.:
and
STOOLMILLER, A.C.
Glycosaminoglycans. A biochemical
and clinical review. - J. Invest.
Derm. 63, 433 - 449 (1974)
- LANGNESS, U.:
and
UDENFRIEND, S.
Collagen biosynthesis in non-fibro-
blastic cell lines. - Proc. nat.
Acad. Sci. USA 71, 50 - 51 (1974)
- LENNARZ, W.A. (ed.):
Biochemistry of glycoproteins and
proteoglycans. - Plenum Press, New
York - London (1980)
- LIGHT, N.D.:
and
BAILEY, A.J.
Molecular structure and stabili-
zation of collagen fibre. In:
Biology of collagen (eds. VIIDIK,
A. and VUUST, J.). - Acad. Press,
New York, 15 - 38 (1980)

- LINSENMEYER, T.F.: Temporal and spatial transition in collagen types during embryonic chick limb development. - Dev. Biol. 40, 372 - 377 (1974)
- LINSENMEYER, T.F.: Collagen. In: Cell Biology of extra-cellular matrix (ed. HAY, E.). - Plenum Press, New York - London, 5 - 37 (1981)
- MANABE, T.: Collagen in health and disease.
and - Arch. Pathol. Lab. Med. 100,
KIKKAWA, Y. 259 - 264 (1976)
- von der MARK, K.,: Study of differential collagen syn-
von der MARK, H., thesis during development of the
and chick embryo by immunofluorescence.
GAY, S. - Dev. Biol. 48, 237 - 249 (1976)
- von der MARK, K.,: Immunofluorescent localization of
von der MARK, H., collagen types I, II and III in the
TIMPL, R., embryonic chick eye. - Dev. Biol.
and 59, 75 - 85 (1977)
TRELSTAD, R.L.
- MCKUSICK, V.A.: The biology of normal connective
tissue. In: Heritable disorders of
connective tissue. - 4th edn.,
32 - 60 St. Louis: Mosby (1972)

- MERKER, H.-J.:
and
STRUWE, K.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem der Sekretion der bindegewebigen Interzellularsubstanz. - Z. Zellforsch. 115, 212 - 225 (1971)
- MERKER, H.-J.:
and
GÖNTHER, Th.
Die elektronenmikroskopische Darstellung von Glykosaminoglykanen im Gewebe mit Rutheniumrot. - Histochemie 34, 293 - 303 (1973)
- MERKER, H.-J.:
Entstehung und Reifung des Bindegewebes und die pharmakologische Beeinflussung dieser Vorgänge. In: Neue Gesichtspunkte zu den Folgen der chronischen Polyarthrititis (ed. BYK-Gulden, Konstanz). - 93 - 106 (1974)
- MERKER, H.-J.,:
ZIMMERMANN, B.,
and
GRUNDMANN, K.
Differentiation of isolated blastemal cells from limb buds into chondroblasts. In: Tissue culture in medical research (eds. RICHARDS, R.J. and RAJAN, K.T.). - Pergamon Press, Oxford - New York, 31 - 39 (1980)
- MILLER, A.:
Structural studies on connective tissue. In: Biology of collagen (eds. VIIDIK, A. and VUUST, J.). - Acad. Press, New York, 39 - 52 (1980)

- MILLER, E.J.: Biosynthesis of collagen. *Fec. Proc.*
and 33, 1197 - 1204 (1974)
- MATUKAS, V.J.
- MUIR, H.: Chemistry and metabolism of
connective tissue: Glycosamino-
glycans (Mucopolysaccharides). In:
The Biochemistry of mucopolysaccha-
rides of connective tissue (eds.
CLARK, F. and GRANT, J.K.). -
Cambridge University Press, 4 - 22
(1961)
- MUIR, T.H.M.: The chemistry of ground substance
of joint cartilage. In: The joints
and synovial fluid (ed. SOKOLOFF,
L.). - Acad. Press, New York, II,
27 - 94 (1980)
- NEMETSCHEK, Th.,:
RIEDL, H.,
and
JONAK, R. Topochemistry of the binding of
PTA to collagen. - *J. Mol. Biol.*
133, 67 - 83 (1979)
- O'CONNOR, B.L.: The histological structure of dog
knee menisci with comments on its
possible significance. - *Am. J.*
Anat. 147 (4), 407 - 417 (1976)

- OLSEN, B.R.: Collagen biosynthesis. In: Cell biology of the extracellular matrix (ed. HAY, E.). - Plenum Press, New York - London, 139 - 172 (1981)
- PALADE, G.: Intracellular aspects of the process of protein synthesis. - Science 189, 347 - 358 (1975)
- PENTTINEN, R.,
FREY, H.,
AALTO, M.,
VUORIO, E.,
and
MARTTALA, T. Collagen synthesis in cultured cells. In: Biology of collagen (eds. VIIDIK, A. and VUUST, J). - Acad. Press, New York, 87 - 103 (1980)
- PROCKOP, D.J.,
KIVIRIKKO, K.I.,
TUDERMANN, L.,
and
GUZMAN, N.A. The biosynthesis of collagen and its disorder. - New Engl. J. Med. 301, 13 - 23 / 77 - 85 (1979)
- ROSS, R.: The connective tissue fibre forming cell. In: Treatise on collagen (ed. RAMACHANDRAN, G.N.). - Acad. Press, New York, 1 - 82 (1968)
- ROSS, R.: Connective tissue cells, cell proliferation and synthesis of extracellular matrix - A review. - Phil. Frans. R. Soc. London Ser. B 271, 247 - 259 (1975)

- ROUGHLEY, P.J.: The presence of a cartilage-like
McNICOL, D., proteoglycan in the adult human
SANTER, V., meniscus. - Biochem. J. 197 (1),
and 77 - 83 (1981)
BUCKWALTER, J.
- SLAVKIN, H.C.: The comparative molecular biology
of extracellular matrices. - Acad.
Press, New York (1972)
- SMITH, J.W.: Molecular pattern in native colla-
gen. - Nature 219, 157 - 158 (1968)
- SMITH, B.D.,: Nature of collagen synthesized by
MARTIN, G.R., a transplanted chondrosarcome.
MILLER, E.J., - Arch. Biochem. Biophys. 166,
DORFMAN, A., 181 - 186 (1975)
and
SWARM, R.
- SMITH, B.D.: Characterization of collagen pre-
McKENNEY, K.H., cursors found in rat skin and rat
and bone. - Biochemistry 16, 2980 -
LUSTBERG, T.J. 2985 (1977)
- SCHAER, H.: Der Meniskusschaden. - G. Thieme
Verlag, Leipzig, 154 (1938)
- SCHALLOCK, G.: Untersuchungen zur Morphologie der
Kniegelenksmenisci anhand von Mes-
sungen und histologischen Befunden.
- Virchow's Arch. Path. Anat. 304,
559 - 590 (1939)

- SCHMITT, F.O.: Tropocollagen and the properties
GROSS, J., of fibrous collagen. - Exp. Cell
and Res. (Suppl.) 3, 326 - 334 (1955)
HIGHBERGER, G.H.
- SCHUBERT, M.: Structure of connective tissue, a
chemical point of view. - Fed.
Proc. 25, 1047 - 1052 (1966)
- SCHWARZ, W.: Die Binde- und Stützgewebe. In:
BENNINGHOFF/GOERTTLER Lehrbuch
der Anatomie des Menschen (Hrg.
von FERNER und STAUBESAND).
- Urban & Schwarzenberg Verlag
(1978)
- TOBLER, Th.: Zur normalen und pathologischen
Histologie des Kniegelenksmenis-
kus. - Arch. Klin. Chir. 177,
483 - 495 (1933)
- VIIDIK, A.: Functional properties of collagenous
tissues. - Int. Rev. Conn. Tissue
Res. 6, 127 - 217 (1973)
- WAGNER, H.-J.: Die Kollagenfaserarchitektur der
Menisken des menschlichen Knie-
gelenks. - Z. Mikrosk. Anat. Forsch.
302 - 324 (1976)

WASSERMANN, F.:

The intercellular components of connective tissue: Origin, structure and interrelationship of fibres and ground substance. - *Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch.* 35, 240 - 333 (1956)

WASSILEW, W.:

Elektronenmikroskopische und histochemische Untersuchungen zur Entwicklung des Kniegelenks bei Ratten. - *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* 137, 221 - 238 (1972)

YAMADA, K.M.:

Fibronectin and other structural proteins. In: *Cell biology of the extracellular matrix* (ed. HAY, E.). - Plenum Press, New York - London, 95 - 114 (1981)

YASUI, K.:

Three-dimensional architecture of human normal menisci. - *J. Jpn. Orthop. Ass.* 52/3, 391 - 399 (1978)

B i l d a n h a n g

Abb. 1: Mäuseembryo, Tag 18 der Schwangerschaft.

Rutheniumrot-Fixierung.

Meniscusanlage.

Oberflächlicher Bereich mit angeschnittenem Gelenkspal- (S), oberflächlich flach ausgezogene Zellen, jedoch ohne direkten Kontakt (→). In der oberflächlichen Schicht der Meniscusanlage finden sich Zellen mit reichlich rER (X), großem Golgi-Apparat (G) und großen Kernen (N). (M) bedeutet Zelle in Mitose. Zwischen den Zellen (I) granuläre und fibroläre Strukturen.

Vergrößerung 6 000 : 1

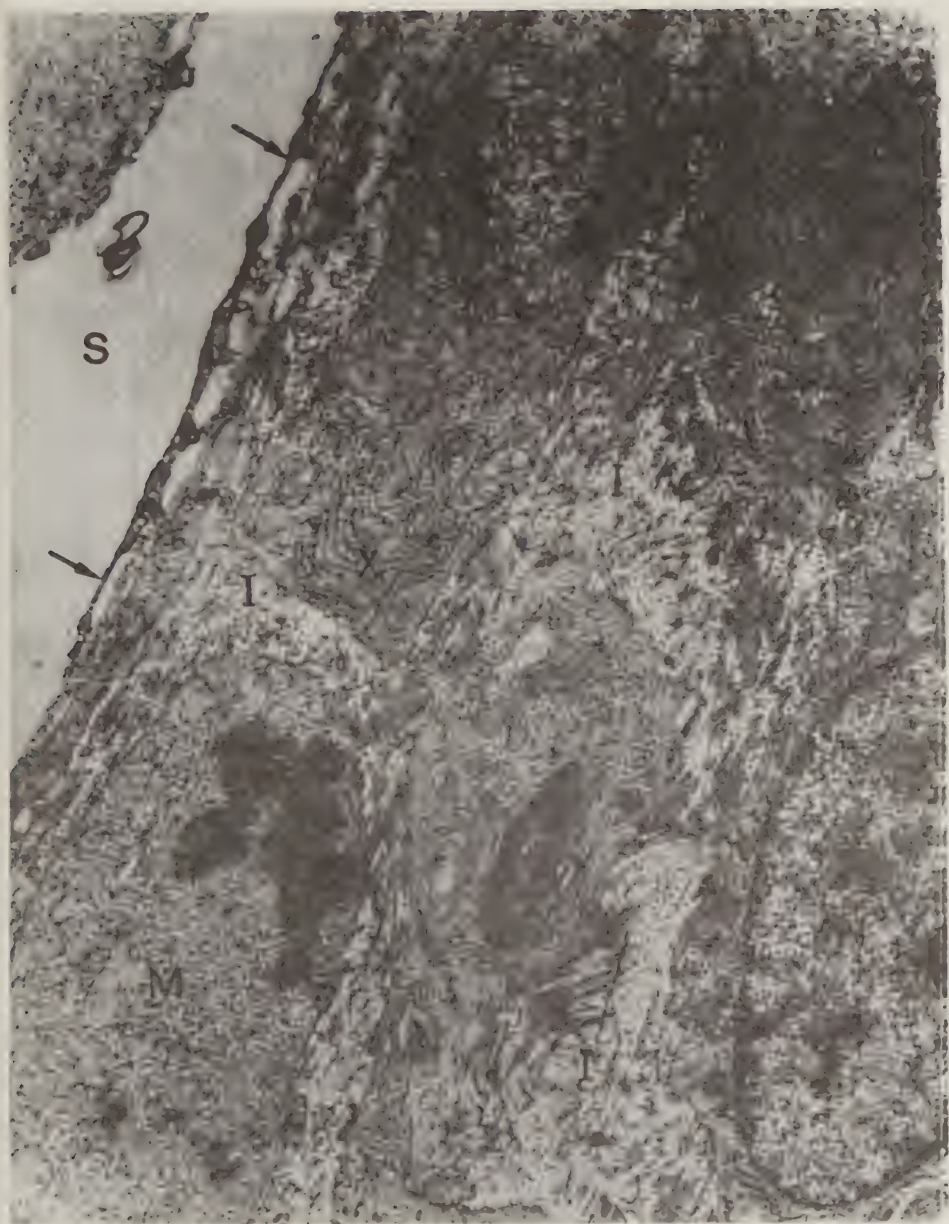


Abb. 2: Mäuseembryo, Tag 18 der Schwangerschaft.

Rutheniumrot-Fixierung.

Fibroblastenähnliche Zellen aus der Meniscusanlage mit einem großen, aufgelockerten Kern (N), einem deutlichen Nukleolus (NO), rER (X), Mitochondrien (M) und freien Ribosomen (O). Im interzellulären Raum (I) kollagene Fibrillen, die zumeist in parallel gepackten Bündeln (*) verlaufen und zahlreiche, elektronendichte Granula (→).

Vergrößerung 18 000 : 1



Abb. 3: Wie Abb. 2. Ausschnittsvergrößerung.

Meniscusanlage mit zwei Zellen und der dazwischenliegenden Interzellulärsubstanz. In den Zellen rER (X), freie Ribosomen (O), Mitochondrien (M), Sekretgranula (*). Im Interzellularraum vorwiegend parallel verlaufende, kollagene Fibrillen (K). In den fibrillenfreien Räumen Granula (G) und kleinere, elektronendichtere Strukturen, auch in regelmäßigen Abständen den Fibrillen aufsitzend (->).

Vergrößerung 28 000 : 1



Abb. 4: Wie Abb. 3, jedoch zusätzlich Bündel aus Filamenten (F) im Interzellularraum.

Vergrößerung 40 000 : 1



Abb. 5: Mäuseembryo, Tag 18 der Schwangerschaft.

Rutheniumrot-Fixierung.

Deutliches Bündel parallel verlaufender Kollagenfibrillen (K) zwischen zwei fibroblastenähnlichen Zellen in der Meniscusanlage.

Daneben elektronendichte (RR-positive) Granula, die teilweise über feine Filamente vernetzt sind (O). Auf der Fibrillenoberfläche in regelmäßigen Abständen zarte, RR-positive Strukturen (→). In den anliegenden fibroblastenähnlichen Zellen ein Kernanschnitt (N), freie Ribosomen, rER (X) und ein Sekretgranulum (*), Teil eines Golgi-Apparates (G).

Vergrößerung 40 000 : 1



Abb. 6: Wie Abb. 5, zusätzlich mit einem dicht gepackten
Filamentbündel (F).

Vergrößerung 40 000 : 1

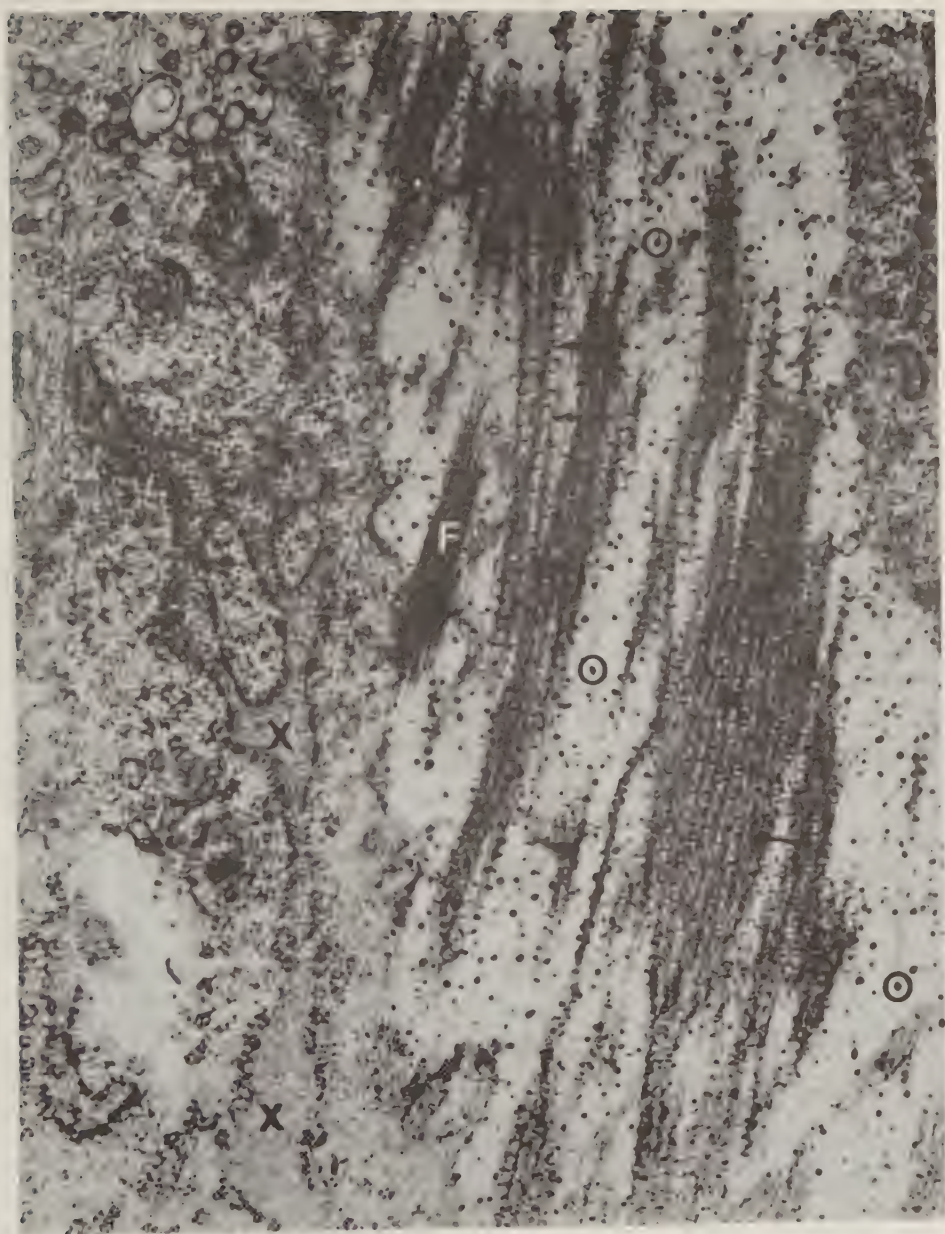


Abb. 7: Mäuseembryo, Tag 18 der Schwangerschaft.

Rutheniumrot-Fixierung.

Größerer Interzellularraum in der Meniscusanlage mit angeschnittener Peripherie einer fibroblasten-ähnlichen Zelle, die lange Fortsätze aussendet (→). Im Interzellularraum einzeln (1) oder gebündelt (2) verlaufende, kollagene Fibrillen mit regelmäßig auf-sitzenden, RR-positiven Strukturen. In den inter-fibrillären Räumen relativ große, RR-positive Gra-nula (0), die teilweise feinfilamentär vernetzt sind.

Vergrößerung 40 000 : 1



Abb. 8: Mäuseembryo, Tag 18 der Schwangerschaft.

Rutheniumrot-Fixierung.

Höhere Vergrößerung aus der Meniscusanlage mit der Peripherie einer fibroblastenähnlichen Zelle, einem Fibrillenbündel (K), Einzelfibrillen (→), Filamenten (F) und RR-positiven Granula (O) im Interzellularraum.

RR-positive Strukturen, z.T. in regelmäßigen Abständen auch an der Fibrillenoberfläche (*).

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 9: Mäuseembryo, Tag 18 der Schwangerschaft.

Rutheniumrot-Fixierung.

Zwei große kollagene Fibrillenbündel (K) aus dem Interzellularraum der Meniscusanlage. Den Einzel-fibrillen sitzen z.T. regelmäßige, RR-positive Strukturen auf (→). Zwischen den Fibrillenbündeln ein Filamentbündel (F), Fortsätze der fibroblastenähnlichen Zellen (*). Außerhalb der Fibrillenbündel zahlreiche, RR-positive Granula (O).

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 10: Maus, 48 Tage postnatal.

Tannin-Fixierung.

Kapselnaher Meniscusbereich, fibrocytenähnliche Zelle (F), dicht eingemauert in kollagenes Fibrillenbündel (K).

Vergrößerung 7 000 : 1



Abb. 11: Wie Abb. 10, jedoch höhere Vergrößerung eines Fibrocytenfortsatzes (F) der in dicht gepackte Kollagenfibrillen (K) eingemauert ist.

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 12: Maus, 48 Tage postnatal

Tannin-Fixierung.

Zentraler Meniscusbereich.

Abgerundete Zellen mit großem, aufgelockerten Kern (N), großem Nukleolus und reichlichem rER (X) im Cytoplasma. In unmittelbarer Umgebung, besonders an den Polen der Zelle, ein homogenes bis feinfilamentäres Material, das die Zelle kapselförmig umgibt (*). In weiterer Entfernung dicht gepackte, vorwiegend schräg angeschnittene, kollagene Fibrillen (K).

Vergrößerung 7 000 : 1



Abb. 13: Maus, 48 Tage postnatal.

Rutheniumrot-Fixierung.

Abgerundete, chondrocytenähnliche Zelle mit einem runden Kern (N) und reichlichem rER (X) im Cytoplasma. In unmittelbarer Umgebung der Zellen ein granulareicher Saum (*), der in das dicht gepackte kollagene Fibrillengefüge (K) eingepaßt ist.

Vergrößerung 7 000 : 1



Abb. 14: Wie Abb. 13, jedoch in einer etwas unterschied-
licheren Schnittrichtung.

Vergrößerung 7 000 : 1

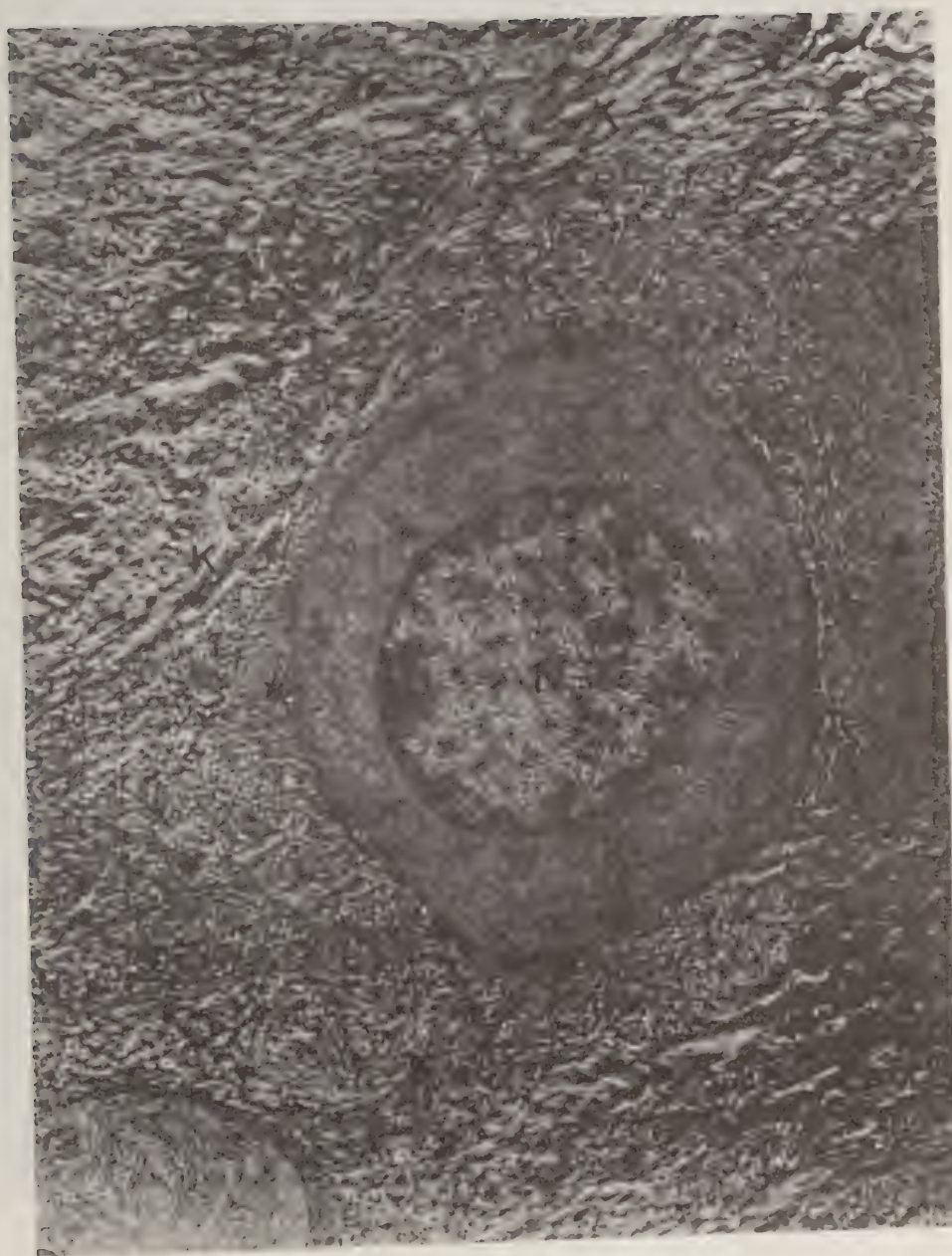


Abb. 15: Maus, 48 Tage postnatal.

Tannin-Fixierung.

Chondrocytenähnliche Zellen im zentralen Meniscusbereich mit großem abgerundeten Kern (N), reichlichem rER (X) im Cytoplasma und zahlreichen Zellfortsätzen (→) an der Oberfläche.

Vergrößerung 7 000 : 1



Abb. 16: Maus, 48 Tage postnatal.

Rutheniumrot-Fixierung.

Zentrale Meniscusanlage.

Peripherie einer chondrocytenähnlichen Zelle (C) mit einer Kapsel aus zahlreichen, RR-positiven Granula (O) und Filamenten (→). In einiger Entfernung von der Zelle beginnt die Zone der dicht gepackten, kollagenen Fibrillen (K), denen in geringerer Menge RR-positive Strukturen aufsitzen (*). Als Besonderheit soll noch ein dicht gepacktes Filamentbündel (F) erwähnt werden.

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 17: Wie Abb. 16.

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 18: Maus, 48 Tage postnatal

Rutheniumrot-Fixierung.

Peripherie und Umgebung einer chondrocytenähnlichen Zelle (C) im zentralen Bereich des Meniscus.

Zahlreiche RR-positive Granula (G) in der Umgebung der Zelle. Die kollagenen Fibrillen im Längs- (1) oder im Querschnitt (2) zeigen eine deutliche Dickenzunahme mit der Entfernung von der Zelle.

In unmittelbarer Nähe der Zellmembran finden sich nur feine Filamente (→).

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 19: Maus, 48 Tage postnatal.

Rutheniumrot-Fixierung.

Chondrocytenähnliche Zelle (C) mit rER (X) und Sekretgranula (S), umgeben von einem Hof aus dicht gepackten, RR-positiven Granula (O). Daran schließt sich eine mineralisierte Zone an, in der die kollagenen Fibrillen weitgehend maskiert sind (*).

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 20: Maus, 48 Tage postnatal.

Tannin-Fixierung.

Teil einer chondrocytenähnlichen Zelle (C) aus dem zentralen Bereich des Meniscus. Zwischen Zellmembran (→) und dicht gepackten, kollagenen Fibrillen (K) ist eine kapselähnliche Zone aus unregelmäßig verlaufenden, morphologisch schlecht definierbaren, filamentären Strukturen eingeschaltet (*).

Dieser Aspekt wird in den Abbildungen 21, 22, 23 noch an verschiedenen Regionen gezeigt.

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 21: Wie Abb. 20.

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 22: Wie Abb. 20

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 23: Wie Abb. 20.

Vergrößerung 70 000 : 1

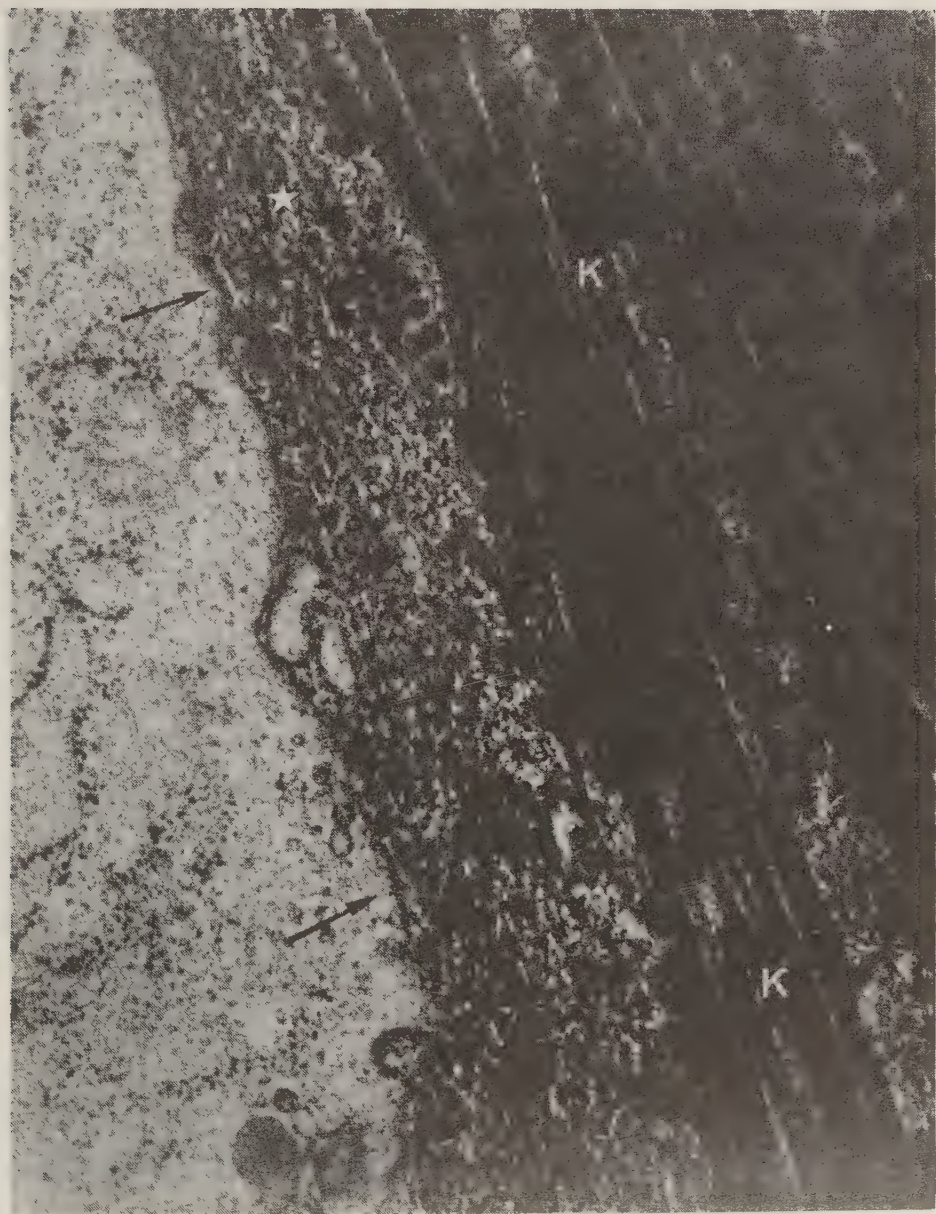


Abb. 24: Maus, 48 Tage postnatal.

Tannin-Fixierung.

Randbereich einer chondrocytenähnlichen Zelle (C) aus dem Meniscus mit zahlreichen Fortsätzen an der Oberfläche (F).

In der unmittelbaren Umgebung der Zelle zahlreiche mehr oder weniger elektronendichte Filamente und Granula mit unregelmäßiger Packung und Verlauf (*).

Vergrößerung 70 000 : 1



Abb. 25:

A) Mäuseembryo, Tag 18.

Längsschnitt durch das Kniegelenk.

Gefrierschnitt ohne vorausgehende Fixierung.

Nachweis von Antikörpern gegen Kollagen Typ I.

Besondere Hervorhebung des Perichondriums und
der Menisci (→).

B) Mäuseembryo, Tag 18.

Längsschnitt durch das Kniegelenk.

Gefrierschnitt ohne vorausgehende Fixierung.

Nachweis von Antikörpern gegen Kollagen

Typ III.



Abb. 26: Mäuseembryo, Tag 18. Gefrierschnitt ohne vorausgehende Fixierung.

A) Darstellung der knorpelspezifischen Proteoglykane. Färbung auch im Meniscus (→).

B) Darstellung des Kollagen Typ II. Kein Nachweis im Meniscusbereich.

C) Darstellung des Kollagen Typ III. Deutlicher Nachweis an der Gelenkoberfläche, im Meniscus (→) und im Kapselbereich.

D) Darstellung des Kollagen Typ I. Deutliche Anfärbung des Meniscus (→) und der Subcutis.



Abb. 27: Erwachsene Maus. Gefrierschnitt ohne vorausgehende Fixierung. Längsschnitt durch das Kniegelenk.

A) Darstellung des Kollagen Typ I. Deutliche Färbung des Meniscus (→) und der Knochenstrukturen.

B) Darstellung der knorpelspezifischen Proteoglykane im isolierten Meniscus.

C) Darstellung von Kollagen Typ II im Meniscus (→), im Gelenkknorpelbereich und in der Epiphysenfuge.

D) Höhere Vergrößerung von C) nach Behandlung mit Hyaluronidase.



An dieser Stelle möchte ich mich noch einmal recht herzlich bei Herrn Professor Dr. med. H.-J. Merker für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit bedanken.

Mein Dank gilt ferner den Mitarbeitern des Instituts für Toxikologie und Embryonalpharmakologie der Freien Universität Berlin, in besonderem Maße aber Herrn Dr. med. H.-J. Barrach sowie den Damen Frau U. Krüger, I. Wolff und K. Stiller, die mir bei der Durchführung der einzelnen Aufgaben stets hilfreich zur Seite gestanden haben.

Lebenslauf

Name: Bernd König

Geburtstag und -ort: 8. August 1947 in Berlin

Eltern: Franz König, Kaufmann
Erna König, geb. Gröschler

Schulbesuch: 1954 - 1960 Grundschule in
Berlin-Charlottenburg
1960 - 1968 Sophie-Charlotte-Oberschule in Berlin-Charlottenburg

Reifeprüfung: März 1968

Studium der Zahnmedizin: ab Wintersemester 1972/73
bis Sommersemester 1978
(Staatsexamen) an der
Freien Universität Berlin

Approbation als Zahnarzt: September 1978

Studium der Humanmedizin: ab Wintersemester 1979/80
(Zweitstudium) an der
Freien Universität Berlin

Seit dem 1. Oktober 1981 in eigener zahnärztlicher Praxis tätig.

